

氚标记昆虫保幼激素类似物 738 在家蚕体内的吸收和排泄

何首林 易永

(西南农学院)

摘要 用氚标记的昆虫保幼激素类似物 738(代号 ^3H -JHA-738)对5龄中期家蚕进行涂布蚕体和涂布桑叶添食,经测量查明:涂体处理后,放射性经蚕粪平均排泄速率,4小时为1.8%,48小时达到61.7%,试验终了为67.2%;吸收率为32.8%。涂叶添食处理后,放射性经蚕粪平均排泄速率4小时内达48.5%,48小时内为90.8%,试验终了达到93.3%;吸收率仅为6.7%。 ^3H -JHA-738及其代谢产物在蚕体内的半活性期,涂体者为48小时,添食者仅有4个多小时。血液里放射性在处理前4小时迅速升高,之后则大幅度下降。两种处理,各组织器官里放射性物质的代谢率自48小时后就较缓慢且大体接近。它们在蚕体各组织器官里的绝对分布量涂体者大于添食者,但相对或平均分布率仍较接近。它们进入蚕体后主要分布在脂肪体、体壁、丝腺和消化管里。涂体者的放射性如以 ^3H -JHA-738残留量计量,蚕蛹内平均为0.027ppm,丝平均为0.0019ppm,卵为0.013ppm。添食者残留量,蚕蛹内平均为0.0057ppm。丝平均为0.001ppm,卵为0.0035ppm。

研究结果表明, ^3H -JHA-738在家蚕体内的吸收和排泄,运转和分布、积累和残留,受处理方式的影响,与蚕体性别无关。

自1967年昆虫保幼激素化学结构式被阐明以后(Röller et al., 1967),最近10多年来在保幼激素的人工合成和应用研究上均已取得了不少进展。国内从1972年保幼激素研制成功后,对蚕丝增产进行了大量的试验研究(广东顺德县科技局,1976;山东省蚕业研究所,1975;江苏省蚕业研究所,1974)。对于保幼激素类似物增加蚕丝的机理也做了很多研究,并有详细报道(中国科学院动物研究所昆虫生理室,1974;华南农学院蚕桑系,1978;郭鄂等,1978)。

关于保幼激素在昆虫体内的代谢动态,贮存分布及排泄过程,尤其是以家蚕为试验对象,目前报道较少。Whitmore等(1972)认为,保幼激素能长期存在于靶官中不变,或者贮存在脂肪体细胞的油滴中。郭鄂等(1979)认为,保幼激素在体液中和脂蛋白结合,这种脂蛋白分子量较小,有利于保幼激素的运转。此外,Erley等(1975)曾向飞蝗成虫体内注射 ^3H 标记的 C_{18} 保幼激素,3小时内放射性一半从身体内消失,48小时内2/3的放射性物质被排出体外,少量的放射性物质残留在消化管内。

我国是世界上蚕丝生产最著名的国家,昆虫保幼激素应用于增产蚕丝,是我国七十年代养蚕的一项新技术。进一步查明保幼激素在家蚕体内的吸收、排泄、运转、分布和残留,是一个急待解决的重要课题,而利用放射性同位素示踪原子法是解决上述课题的有效手

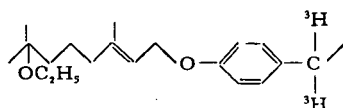
本文于1980年10月收到。

吴庆香、黄明同志参加试验工作;本院蚕桑系王光江同志提供试验用蚕;四川省中药研究所郑振元、齐尚斌同志协助放射性测量工作;本文经李隆教授审阅,一并致谢。

段。为此,我们应用 ^3H 标记的保幼激素类似物 738,对家蚕进行涂布蚕体和涂布桑叶添食处理,试图通过放射性测量,了解昆虫保幼激素类似物 738 在家蚕体内吸收与排泄的情况;在主要器官组织中的贮存和分布;在蚕蛹、丝及卵里的残留剂量,为该激素在蚕丝生产上的试验研究、推广应用提供理论依据。

材 料 与 方 法

本试验于 1979 年秋季进行。供试家蚕品种为苏三 $\times$ 苏四。标记化合物为高比度的氚标记昆虫保幼激素类似物 738,化学名称是: 1-对乙基苯氧基-7-乙氧基-3,7-二甲基-2-辛烯(代号: ^3H -JHA-738),结构式为:



由上海原子核研究所供给,放射性比强度为 26,000 毫居里/毫克分子,放化纯度经气相层析和硅胶纸层析鉴定均大于 95%,原液为乙醇溶液。

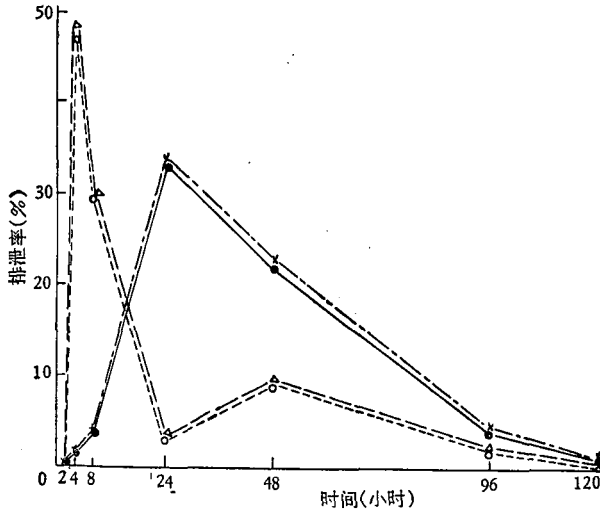
试验处理在蚕儿 5 龄中期,处理方式分原液涂布蚕体和涂布桑叶添食,处理剂量为 0.11 微克 ^3H -JHA-738/头蚕,放射性强度为 10 微居里/头蚕。每种处理设前期供采集蚕粪、后期供采集蛹、卵、丝样品组和采集主要组织器官样品组,雌、雄各半,分别饲养。

处理后于 2、4、8、24、48、96、120 小时分别采集蚕粪、称总重,自然干燥后磨碎成粉,抽取 10 毫克待用;再于采集组织器官组内同一头蚕身上,先抽取血液 100 微升,而后及时解剖采集器官样品,样品用清水洗净表面污染后称鲜重待用。试验后期在采集蚕粪组内采集蛹、卵、丝样品,分别称鲜重待用。所有采集的样品分别置于指形管内,按比例依次加入定量的高氯酸和过氧化氢消化液后,置于 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅上进行消化,样品消化好后分别倒入盛有甲苯闪烁液的测量瓶中,摇均匀后进行放射性测量。

测量仪器用 FJ-353 型双道液体闪烁谱仪,测得的放射性脉冲数包括 ^3H -JHA-738、含氚的生物降解产物和脱落的氚原子。除蚕粪样品外,所有样品的测量数据都统一在 100 毫克样品重水平上统计和分析,蛹、卵、丝样品测得的脉冲数经标准源核对后,换算成每克鲜样中 ^3H -JHA-738 残留微克数。

结 果 与 讨 论

1. 蚕体对 ^3H -JHA-738 的吸收和排泄 试验结果(图 1)表明:涂体者,在涂体后 4 小时内仅有少量放射性排出体外(雄蚕 1.74%、雌蚕 1.81%)。24 小时内有 1/3 以上的放射性物质从蚕体内排出(雄蚕 38.5%、雌蚕 39.8%)。48 小时内过半量的放射活性从蚕体内消失(雄蚕 60.4%、雌蚕 62.9%),即涂体者 ^3H -JHA-738 在蚕体内的生物半衰期约为 48 小时以内。试验终了,蚕体对 ^3H -JHA-738 的排泄率雄性为 65.6%、雌性为 68.7%,吸收率雌、雄平均为 32.8%。涂布桑叶添食者,在食叶后 4 小时内已达到近半量放射性物质随蚕粪排出体外(雄蚕 47.6%、雌蚕 49.3%),即添食者 ^3H -JHA-738 在蚕体内的生物半活性期仅有 4 小时左右。到 24 小时蚕体对放射性物质的排出百分率大幅度下降(雄蚕 3.1%、雌蚕 3.2%)。48 小时排出率再次出现回升现象(雄蚕 9.3%、雌蚕 9.4%),

图1 ^3H -JHA-738 经蚕粪排泄动态

(图1—8 ●——● 涂体 ♂ ×——× 涂体 ♀ ○——○ 添食 ♂ △——△ 涂食 ♀)

此后排泄率再次下降。试验终了,绝大部分放射性物质均随蚕粪排出体外(雄蚕 91.9%,雌蚕 94.5%),吸收率雌雄平均仅有 6.8%。由上述试验结果可见,家蚕对 ^3H -JHA-738 的吸收和排泄量、排泄速率等,仅与试验处理方式有密切关系,基本上不受性别的影响。

关于昆虫保幼激素在虫体内的吸收和排泄,Erley 等 1975 年曾用合成的 ^3H - C_{18} 保幼激素溶于石蜡油中,注射飞蝗成虫体内,并测定粪便中的放射性物质,在注射后 1.5 小时内,体液中已失去一半放射性,3 小时内放射性一半从身体内消失,48 小时内 2/3 的放射性物质被排出体外,代谢速率并不因飞蝗成虫性别和年龄而异。Nowock 等 (1976) 指出:由于 5 龄幼虫体内酯酶活性高,所以保幼激素半排出期很短。本试验因为试验处理对象、所用保幼激素品种及试验处理方法和 Erley 等人试验有别,所以试验结果有一定差异,但标记保幼激素被吸收的少而排出的多、排泄速率快及与虫体性别无关等基本相似。

对本试验中因不同处理方式而引起的家蚕对 ^3H -JHA-738 吸收和排泄量较大差异的原因,我们认为:涂体 ^3H -JHA-738 的排出须经蚕体体壁对标记物缓慢渗透吸收、血液的运转、各器官的贮存转化和再释放这样一个较长而复杂的过程。因此, ^3H -JHA-738 的自然损失量少,绝对吸收量多,而排泄量比添食者为小,排泄峰值只有一个而且出现较晚。涂叶添食处理,进入蚕体的 ^3H -JHA-738 主要是通过中肠肠壁的吸收而实现的。但是,标记的食物仅能在 5 龄蚕的消化道里停留 5 个小时左右,过了这段时间,未被吸收的 ^3H -JHA-738 就随蚕粪大量排出体外。所以,自然损失多,绝对吸收量少而排泄量大,排泄峰值也出现的早而且有第二个排泄高峰。第一峰值是因受时间限制,蚕体消化道来不及吸收 ^3H -JHA-738,因此它是一种自然损失现象而导致的。第二峰值是 ^3H -JHA-738 经消化道的吸收、血液的转运、各组织器官的贮存转化再释放后随蚕粪排出体外的代谢结果。所以第二个峰值才是真正的代谢排泄峰值。可见涂叶添食者, ^3H -JHA-738 在蚕体内完成一个代谢周期约需 48 小时左右。试想,如果把一次添食剂量 (0.11 微克/头蚕)

分散多次涂叶添食,以增加肠壁对其吸收时间,那么,吸收量则可能升高。

2. ^3H -JHA-738 在蚕组织器官中的代谢动态 对于蚕体各主要组织器官放射性强度测量结果表明,两种方式处理的同种组织器官在相同时间里放射性物质脉冲百分数的起落,表现出很多相似性,而且较为接近。从图 2 至图 8 中所绘活性曲线结果可以看出:

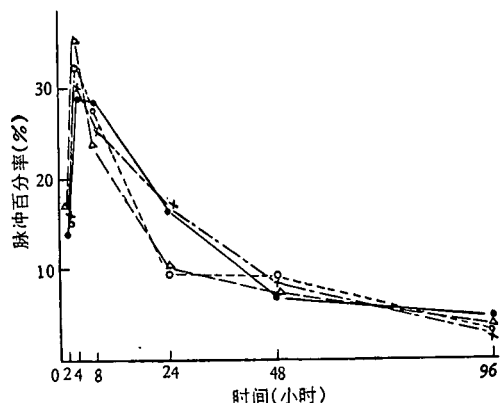


图 2 血液里 ^3H -JHA-738 代谢动态

(1) 自处理后 4 小时内,血淋巴里放射性物质大幅度增加,在 2 小时区间内涂体者雌、雄分别上升 15.0% 和 14.4%,添食者雌、雄分别上升 17.0% 和 19.0%。4 小时后血淋巴里放射活性两种方式处理的均消失很快(图 2)。由此可见,4 小时前血淋巴主要是对 ^3H -JHA-738 的吸收,而 4 小时后主要为转运供给蚕体其他组织器官或经粪便排出体外。

(2) 除涂体者中、后部丝腺和体壁外,其他组织器官里的放射活性于处理后 8 小时达到高峰,而后至试验终了其放射活性

一直处于逐渐减弱趋势,并表现为 24 小时之前减弱趋势很快,其后较为缓慢(图 3-8)。上述结果说明,这些组织器官在 8 小时之前是对 ^3H -JHA-738 吸收的高潮期,其后则是以代谢排泄为主。

(3) 涂体者中、后部丝腺中的放射活性在处理 24 小时才达到积累峰值,说明该种方式处理的蚕体, ^3H -JHA-738 向丝腺里运转比添食者为慢。24 小时后其丝腺里放射性物质一直处于下降状态(图 6, 7)。涂体者体壁中的放射性强度自第一次取样测量开始,一直表现为逐步下降状态,不具吸收峰值(图 8)。这是因为体壁在没有继续涂布 ^3H -JHA-738 情况下,原涂布的标记物为蚕体体壁逐渐吸收、转运所致,说明体壁对 ^3H -JHA-738 的渗透吸收长时间持续不断。

上述研究结果还证明,蚕体性别不同 ^3H -JHA-738 在各组织器官中代谢动态无明显差异。

5 龄中期的幼虫体内“保幼激素特异性”酯酶活性显著增高,继后又迅速降低。这种酯酶能引起保幼激素水解(Nowock 等, 1976),降解后产生多种有机溶性代谢产物(Hammock 等, 1976),代谢机制较复杂。本试验目的是研究其代谢动态,故对代谢机制不做过多讨论。

目前对保幼激素在虫体内的代谢动态研究报道很少,应用 ^3H 示踪法研究保幼激素类似物在家蚕体内各组织器官中的代谢动态,国内还未见报道。对于使用示踪技术的可靠性,Nowock 等(1976)指出:低比度氚标记的保幼激素,难于用来测定较低浓度的保幼激素。Hammock 等(1976)报道:保幼激素和类保幼激素代谢途径的有关的方法,都特别强调使用放射性示踪技术,但问题是所用放射性标记物的比强度在不少情况下都不够高,使试验结果跟这类化合物的生理行为不能吻合。二人都强调标记激素,必须要有足够高的比活度,才能得到可靠的研究结果,但比活度高到何种程度,未见报道。我们试验

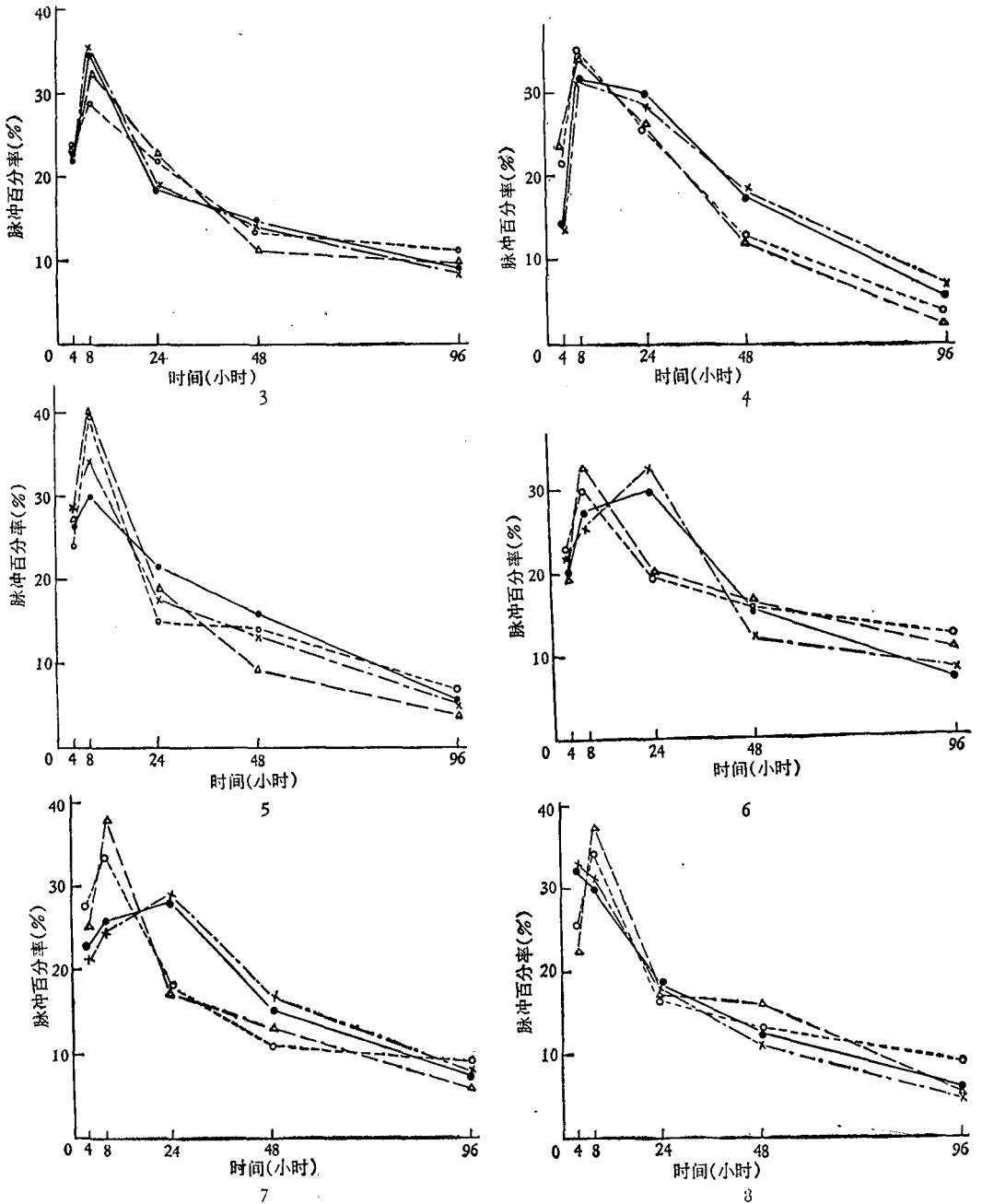


图 3—8

3. 脂肪体里 ^3H -JHA-738 代谢动态 4. 马氏管里 ^3H -JHA-738 代谢动态 5. 中肠里 ^3H -JHA-738 代谢动态 6. 中部丝腺里 ^3H -JHA-738 代谢动态 7. 后部丝腺里 ^3H -JHA-738 代谢动态 8. 体壁里 ^3H -JHA-738 代谢动态

中用的是高比强的 ^3H -JHA-738 (26,000 毫居里/毫克分子)。故认为,经蚕体代谢后,虽然有一部分被降解成含氚的多种有机溶性代谢产物和少数氚原子,由骨架上发生脱落,但在使用剂量为 0.11 微克/头蚕水平上,仍可保持 ^3H -JHA-738 相当高的效价,能够印证其在蚕体内的真实生理行为。用液闪谱仪测得的放射性脉冲数,既有 ^3H -JHA-738,也包

括含氘的降解产物和脱落的氘原子。依据本试验结果,关于 ^3H -JHA-738 在蚕体内各主要组织器官中的命运,虽然因处理方式和组织器官有异,但从时间和放射活性的关系上看,仍有下述共同规律(少数器官例外): 处理后至 8 小时前,蚕体各组织器官里放射性强度急速增加,表明该区间是组织器官对标记物吸收高潮期,相比之下该期持续的时间短。8 至 48 小时区间,蚕体各组织器官中的放射活性急速减弱,可视为该区间为蚕体各组织器官对标记物的代谢排泄高潮期,且持续的时间较长。48 小时以后,各组织器官中放射性的失活比较缓慢而且量少,但持续的时间最长,表明该时期是各器官对 ^3H -JHA-738 的缓慢代谢排泄期。三个时期均与蚕体性别无关。

3. ^3H -JHA-738 在蚕组织器官里的贮存和分布 放射性测量结果表明,从相对量水平上看,虽然试验处理方法有异,仍可看出进入蚕体的 ^3H -JHA-738 均是主要贮存分布于脂肪体、体壁和性器官里。再比较不同处理的蚕体同一种组织器官,这种平均分布率还是处于近似水平上(图 9)。此外,从绝对量水平上看, ^3H -JHA-738 在蚕体各组织器官中的积累量,涂体者比添食者要大数倍至一个数量级。再者,放射性测量结果统计水平是以 100 毫克样品重为基础的。但是,一头实验蚕的性器官和马氏管远不足 100 毫克重,而丝腺和消化管的重量又远超过 100 毫克。所以从绝对积累量上看,两种不同方式处理的蚕体,进入机体的 ^3H -JHA-738 均应是主要贮存分布于脂肪体、体壁、丝腺、血液及消化道中。

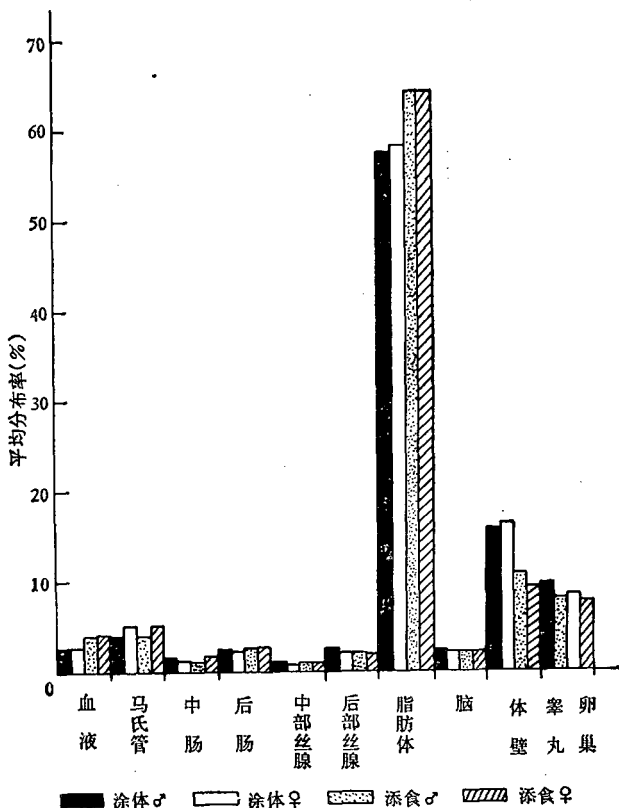


图 9 ^3H -JHA-738 在蚕体组织器官中的分布

上,而蚕丝里平均仅多一倍左右。两种处理 ^3H -JHA-738 在蚕蛹、卵、丝里共同的残留规律是: 蛹>卵>丝(中层丝>内层丝>外层丝)(见表 1)。

从表 1 可以看出,处理方式的不同可导致 ^3H -JHA-738 残留量的很大差别,而蚕体性别的不同所引起的差异甚微。

参 考 文 献

- 广东省顺德县科技局、广东农林学院蚕桑系 1976 昆虫保幼激素在蚕业上的应用。6—33。科学出版社。
- 广东农林学院蚕桑系 1975 昆虫保幼激素类似物对家蚕后部丝腺谷氨酸-丙氨酸转氨酶活性的影响。昆虫学报 18(4): 363—6。
- 山东省蚕业研究所 1975 应用昆虫保幼激素类似物“734-11”乳油增加桑蚕产丝量的试验。昆虫学报 18(3): 266—71。
- 江苏省蚕业研究所 1974 应用昆虫激素类似物增加桑蚕产丝量的研究。昆虫学报 17(3): 290—302。
- 吴载德等 1961 蚕体解剖生理学。54—163。农业出版社。
- 郭 鄂等 1979 昆虫的激素。301—26。科学出版社。
- 郭 鄂等 1979 家蚕丝蛋白的合成和保幼激素的调节。昆虫学报 22(4): 369—75。
- 夏邦颖 1978 昆虫激素作用原理概述。昆虫知识 15(4): 124—7。
- 夏邦颖 1978 保幼激素增产蚕丝作用原理研究进展。科学通报 23(11): 700—3。
- Ajami, A. M. 1974 Approaches to the biosynthesis of the cecropia C₁₈-juvenile hormone. *J. Insect physiol.* 20: 2497—511.
- Hammock, B. D. & G. B. Quistad, 1976 The degradative metabolism of juvenoids by Insects. In *The juvenile hormones*, pp. 374—390, edited by Gilbert, L. I.
- Nowock, J. B. Hammock, & L. I. Gilbert, 1976 The binding protein as a modulator of juvenile hormone stability and uptake, *In The juvenile hormones*, pp. 354—373, edited by Gilbert, L. I.
- Röller, H. et al. 1967 The structure of the juvenile hormone, *Angew. Chem.* 79: 190—1.
- Whitmore, D. et al. 1972 Haemolymph lipoprotein transport of juvenile hormone. *J. Insect physiol.* 18: 1153—67.

ABSORPTION AND EXCRETION OF THE INSECT JUVENILE HORMONE ANALOGUE 738 LABELLED WITH ^3H IN THE SILKWORM *BOMBYX MORI*

HE SHOU-LIN YI YONG

(Southwest Agricultural College)

Silkworm larvae at the middle stage of the fifth instar or the mulberry leaves were sprayed with the insect juvenile hormone analogue 738 labelled with ^3H (^3H -JHA-738). Radioactivity determinations showed that the mean excretion rates of ^3H -JHA-738 in the sprayed larvae were 1.8% for the first 4 hours, 61.7% for the first 48 hours and 67.2% at the end of the experiment; and the absorption rate was 32.8%. The mean excretion rates of ^3H -JHA-738 in the larvae fed with the treated leaves were 48.5% for the first 4 hours, 90.8% for the first 48 hours and 93.3% at the end of the experiment; and the absorption rate was 6.7%. The half activity period of ^3H -JHA-738 was 48 hours in the silkworm sprayed with ^3H -JTA-738 and 4 hours in the silkworms fed with the treated leaves. The radioactivity in the haemolymph

rapidly rose in the first four hours after the treatment and then fell rapidly. The ^3H -JHA-738 absorbed in the fat body, intestine, the middle and posterior parts of the silk gland and body wall of the larvae fed with the treated leaves was more than that excreted between the 4th and 8th hours after the treatment, and then the quantity of the latter was higher than that of the former. The ^3H -JHA-738 in the middle and posterior silk glands of the treated silkworms went through a period of absorption 2 to 24 hours after the treatment, and then it was largely excreted. The radioactivity of the body wall gradually decreased all the time. The metabolic rates of ^3H -JHA-738 in each organ were quite low and approximately similar in 48 hours after both treatments. The absolute retention of the ^3H -JHA-738 in each tissue or organ of the sprayed silkworm was higher than that of the silkworm fed with the treated leaves, but their relative or mean distributions were rather similar. The ^3H -JHA-738 absorbed by the silkworm was mainly distributed in its fat body, body wall, silk glands and alimentary canal. The mean residues of ^3H -JHA-738 in the sprayed silkworm were 0.027 ppm in the pupa, 0.0019 ppm in the silk and 0.013 ppm in the eggs; and those of the silkworm fed on the treated leaves were 0.0057 ppm in the pupa, 0.001 ppm in the silk and 0.0035 ppm in the eggs.

The results indicate that the absorption and excretion of ^3H -JHA-738 in the silkworm are affected by the method of treatment and show no difference to the sexes of the insect.